

## 1 3. 血液・安全性研究部

部長 瀨口 功

### 概 要

血液・安全性研究部はワクチン、血液製剤、及び体外診断薬の品質に関する国家検定・検査および標準品の整備、またこれらの業務に関連した科学的調査・研究を行っている。当部は4室で構成されており、第1室（血液製剤室）は血液製剤に関わる業務、第2室（輸血病態室）は輸血関連病態に関わる業務、第3室（物理化学室）は物理化学に関わる業務、第4室（ワクチン・血液室）は安全性（一般毒性試験など）に関わる業務を行っている。

検定業務においては、新たなワクチンの需要が高まり、国家検定に関する業務も増大している。このような状況の中、平成25年度は沈降精製百日咳ジフテリア破傷風不活化ポリオ混合ワクチン、乳濁細胞培養A型インフルエンザワクチン H5N1 株、細胞培養インフルエンザワクチン H5N1、沈降ヘモフィルスb型ワクチン、髄膜炎菌（血清型A、C、Y及びW-135）多糖体ジフテリアトキソイド結合体ワクチン、pH4 処理酸性人免疫グロブリン（皮下注射）、乾燥濃縮人血液凝固第X因子加活性化第VII因子の承認前検査を行うとともに、品質の均一性を確認するための試験の実施体制を整えた。試験法の改良や試験に用いる共通の参照品の整備を行うなど、試験精度の向上を積極的に図っていくことが肝要である。一方で試験体制の効率化を図らなくてはならない。平成25年度はインフルエンザ HA ワクチンの国家検定からホルムアルデヒド含量試験の廃止を検討した。これまでの試験結果と現在の品質管理状況を多角的に鑑み、廃止は可能との判断に至った。今後も、試験のあり方については十分に検討していく。

体外診断用医薬品においては、C型肝炎ウイルス抗体キット、ABO式血液型キット、Rh式血液型キット、抗ヒトグロブリン抗体（多特異性抗体）、ABO式およびRh式血液型キット（ゲルカラム遠心凝集法血液型判定用抗体）の承認前検査を担当した。また、体外診断薬医薬品の性能試験の充実のため、製造業者が申請承認に係る相関性試験に使用可能なB型肝炎ウイルスおよびC型肝炎ウイルスの感染症検体パネルの整備をウイルス2部と協力して進めている。今後、承認申請および審査の一層の効率化

が期待される。

国際協力業務については、多くの部員がJICA等の研修事業において講師をつとめた。また、生物学的製剤の標準化に関するWHOの会議に出席するとともに、WHO国際標準品制定に関し、A型肝炎ウイルス遺伝子増幅試験法のための国際標準品更新のためのWHO国際共同研究に参加し共同測定を行った。今後も品質管理試験法の改良や試験に用いる標準品、参照品の整備にも積極的に取り組み、試験の精度および信頼性の向上に努める。血液製剤や輸血用血液の安全性に関する国際的な課題については、WHOのBlood Regulators Networkのメンバーとして、課題解決に向け定期的な審議に参加している。

研究業務においては、「感染症」「ワクチン」「血液」の大きな3つのテーマでプロジェクトを進めている。「感染症」においては、HTLV-1感染症の疫学、診断、感染予防、ATLの治療に関する研究を重点的に推進している。この他にも、血液を介する感染症に関する情報を幅広く収集するとともに、病原体検査法の開発・改良を行っている。また「ワクチン」においては、医薬基盤研究所と協力してアジュバントの安全性評価のためのデータベース構築の研究をはじめ、ワクチンの品質向上を目指した試験法の開発・改良等を行っている。こうした当部の研究業務は、厚生労働省科学研究費および文部科学省科学研究費等の補助のもと行われている。

人事の面では、平成25年9月に岡田義昭第一室長が埼玉医科大学に転出された。長期に亘り血液・安全性研究部を支えていただき、たいへん感謝している。後任に大隈和第三室長が異動となった。また、平成25年6月に非常勤職員の建石幸子さんが退職し、7月に高井麻海子さんが採用された。平成26年3月に流動研究員の滝澤和也さんが放射線医学研究所に転出した。

### 業 績

#### 調査・研究

##### I. 血液製剤のウイルス安全性に関する研究

## 1. 病原体検出法の研究

### 1) HTLV-1核酸検査法の標準化

HTLV-1キャリアからATL発症の予後予測因子として末梢血中のHTLV-1プロウイルス量(PVL)が注目されているが、施設毎に独自の測定方法を採用しているため測定結果には大きな差があることが知られる。そこでこれまでに、HTLV-1感染細胞標準品に用いて測定値の標準化を行った。TL-0m1細胞の標準品としての有用性を解析し、FISHやDigital PCR等の複数の測定方法でTL-0m1細胞中のHTLV-1のコピー数を規定した。TL-0m1細胞とヒト末梢血単核球で核酸検査用の研究用標準品を準備し、国内8施設が参加し、測定値の標準化が可能であることを確かめた。また参照品としてTL-0m1とJurkatのgenomic DNAが使用可能であることを国内8施設で確認した。

[倉光球、大隈和、濱口功]

### 2) 血液製剤のウイルスに対する安全性確保を目的とした核酸増幅検査のコントロールサーベイ事業

遡及調査ガイドラインに基づいて輸血後のHBV-NATを実施する国内の民間衛生検査所6社を対象に第6回NATコントロールサーベイを実施した。WHO国際標準HBV DNA遺伝子型パネル等を希釈してブラインド化遺伝子型パネルを作成し、参加施設に配布した。コバスTaqMan<sup>®</sup> HBV「オート」v2.0(ロシュ・ダイアグノスティクス株式会社)とアキュジーン<sup>®</sup>m-HBV(アボットジャパン株式会社)の2種類の体外診断薬が使用された。測定結果から、二つの測定法の感度は同等であり、全施設においてNATの精度管理は適切であり、かつ、遺伝子型A~Gを検出できることを確認した。[水澤左衛子、岡田義昭、濱口功]

### 3) 血液製剤安全性確保のための Dengue ウイルス 高感度核酸検査法の開発

近年、海外からの様々な病原体の輸入例が報告されるようになり、万一国内に定着した場合の血液製剤の安全性確保のため、優れた特異性および感度を有する核酸検査法を準備しておくことが必要となってきた。検査対象としてプール血漿を想定し、約10<sup>4</sup>倍に希釈された血漿中の病原体でも検出できる高感度核酸検査法の開発を目指している。本年度は比較的差し迫った脅威と考えられる Dengue ウイルスの高感度核酸検査系の構築を目指してTaqman法のPrimerのスクリーニングについて検討した。

[大隈和、倉光球、野島清子、濱口功]

## 2. 標準品整備に関する研究

### 1) ウイルスに関する体外診断用医薬品の国際標準品等の動向

体外診断用医薬品に関する国際標準品等について情報収集を行った。2013年はWHOにおいて、第1次HIV-1 CRF参照パネルと第2次HAV-RNA、第1次HDV-RNA、第3次B19V-DNA、第1次HBe抗原、第1次抗HBe抗体の国際標準品が制定された。新規事業としてHCV-RNA国際標準品の更新、抗CMV抗体(IgG)国際標準品の制定、抗風疹抗体測定法の標準化事業が承認された。また、高力価HIV-2 RNA working reagentと、WNVおよびCHIKVの核酸参照パネルの準備が進められている。[百瀬暖佳、水澤左衛子、濱口功]

### 2) 体外診断用医薬品の承認申請のための国内検体を用いた血漿パネル(感染症検体パネル)の整備

国内検体を用いた体外診断用医薬品の既承認品との相関性試験に使用する目的で、感染症検体パネルの交付が本年度4月から開始された。実際、担当のHBV検体パネルにおいて、1メーカーから申請があり交付した。また同時に、新規検体パネルへの更新に向けて、日本赤十字社中央血液研究所より新たに譲渡された国内献血血液を用いて、HBV及びHCVの感染症検体パネルをウイルス第二部と協同で進めている。

[大隈和、百瀬暖佳、加藤孝宣(ウイルス第二部)、濱口功]

### 3) A型肝炎ウイルス遺伝子増幅試験法のための国際標準品更新のためのWHO国際共同研究への参加

欧州ではS/Dプール血漿のHAV-NAT実施が推奨されている。イギリスのNIBSCが組織する第一次HAV NAT国際標準品の更新のための国際共同研究に参加した。12か国17研究室が参加して候補品の力価を測定した。参加者は日常実施している試験法を用いたが、ほとんどはreal-time PCR法に基づく市販の定性キットであった。共同研究の結果は、2013年のECBSに報告され、力価54,000 IU/mLの第二次HAV-NAT国際標準品(code 00/526)が制定された。第一次と同時期に同じ原料から製造された製品で、4°Cでの力価低下が見られるが、-20°Cでは安定であるので、ドライアイス詰めで輸送することになった。[水澤左衛子、岡田義昭]

### 4) パルボウイルス B19 DNA 国内標準品の作製

欧州ではS/Dプラズマと抗D免疫グロブリンの原料血漿、米国では分画製剤の原料血漿へのB19混入量が規制されており、日本の血液製剤関連各社も自主的にB19-NATを実施している。国際標準品に基づいた国内標準品を作製するための共同研究を実施した。日本赤十字社から譲渡

された B19 陽性血漿を B19DNA 陰性・抗体陽性の血漿で希釈、ガラス瓶に 0.5mL 分注凍結した候補品を当部で製造した。国内外の分画製剤メーカーを含む 3 か国 10 施設が参加し、日常実施している測定法で日を変えて 3 回測定した。共同研究の結果は平成 25 年度第 2 回 NAT 小委員会に報告され、力価 1, 100, 000 IU/mL のパルボウイルス B19 DNA 国内標準品として承認された。

[水澤左衛子、落合雅樹(検定検査品質保証室)、濱口功、岡田義昭]

### 5) パルボウイルス B19 参照パネルの作製のための共同検定への参加

市販の B19 NAT 測定キットのうち、Genotype 1 を検出するが Genotype 2 を検出できないものがあると報告され、キットの幅広い検出能を評価するために遺伝子型参照パネルを用いた NAT の検出確認の必要性が指摘されていた。国立医薬品食品衛生研究所が実施するパルボウイルス B19 参照パネルの作製のための共同検定に参加した。国内外 11 施設が参加し、国際標準品の力価に基づいて次の通り参照パネル候補品の力価が決定された。B19-G1 F15 conc (6.6x10<sup>10</sup> IU/mL)、B19-G1 F15 (6.6x10<sup>5</sup> IU/mL)、B19-G2 F27 conc (7.1x10<sup>10</sup> IU/mL)、B19-G2 F27 (8.3x10<sup>5</sup> IU/mL) および陰性コントロール血漿。共同研究の結果は平成 25 年度第 2 回 NAT 小委員会に報告された。

[水澤左衛子、岡田義昭]

## 3. 輸血・細胞治療を介する病原体に関する研究

### 1) 感染症安全対策体制整備事業

デング熱、チクングニア熱、ウエストナイル熱等の世界の一部の地域に限局的に発生する新たな感染症については今後日本国内に移入されることも想定され、迅速かつ的確な対応が求められる。これに対し、新たな病原体が移入した場合に備えて、実効性の高い対策として、厚生労働省血液対策課、日本赤十字社との連携のもと事前対応型の感染症リスク管理体制の構築を行うとともに、新たなリスクの早期把握とリスク評価を行う。本年度は検査実施のための体制整備を行った。

[大隈和、倉光球、野島清子、岡田義昭、濱口功]

### 2) HTLV-1 感染 *in vivo* イメージング解析法の開発

HTLV-1 は主に血液の白血球の一種であるリンパ球のうちの T 細胞 (T リンパ球) に感染するウイルスである。この HTLV-1 感染者 (キャリア) の一部が ATLL (Adult T-cell leukemia, lymphoma: 成人 T 細胞白血病・リンパ腫) や HAM (HTLV-1 associated myelopathy: HTLV-1 関連

脊髄症)などを発症する。主要な HTLV-1 感染ルートは母乳を介した母子感染と考えられており、6 ヶ月以上の長期授乳による母子感染は 15~20% 程度といわれている。しかしながらその生体内での感染メカニズムや感染後の HTLV-1 潜伏組織 (部位) については未だ解明されていない。そこで本研究では蛍光遺伝子 (mCherry) を組み込んだ HTLV-1 を作製し、HTLV-1 感染細胞を *in vivo* で解析可能なシステムの開発を行っている。

[斎藤益満、大隈和、倉光球、濱口功]

### 3) 組換えタンパク質を用いた HTLV-1 感染症/ATL に対する新規治療法の開発

成人 T 細胞白血病 (ATL) は、ヒト T 細胞白血病ウイルス 1 型 (HTLV-1) 感染によって引き起こされる予後不良の疾患であり、現在も標準的で有効な治療法は開発されていない。また、HTLV-1 無症候性キャリアからの ATL 発症を予防するような治療法も開発されていない。最近プロウイルス量が高いキャリアから ATL が高率に発症することが分かってきたため、プロウイルスを保持する感染細胞を標的化し殺傷する組換えタンパク質を用いた新規治療法の開発を進めている。 [大隈和、日吉真照、濱口功]

### 4) ヒト化マウスを用いた HTLV-1 感染症モデルマウスの樹立

病態の解析や薬剤効果の検証において、モデル動物は有力なツールである。本研究では、ヒト化マウスを用いた HTLV-1 感染症モデルマウスの樹立および HTLV-1 感染症の病態発症メカニズムの解明や新規治療法の開発を試みている。まずヒト化マウスを作製するため、高度免疫不全マウスである NOD/SCID/JAK3 ノックアウトマウス (NOJ マウス) の新生仔肝臓にヒト臍帯血より分離した CD133 陽性造血幹細胞を移植した。その結果、移植後 16 週目には HTLV-1 感染に用いるために十分なヒト CD4 陽性 T 細胞の増加が認められた。作製したヒト化 NOJ マウスに HTLV-1 感染細胞である MT-2 細胞を移植したところ、移植後 2 週目にはマウス末梢血中のヒトリンパ球において HTLV-1 感染が確認できた。さらに、移植後 4 週目になると末梢血中のヒトリンパ球数が急増するマウスが確認できた。このように、HTLV-1 感染モデルマウス作製法はほぼ樹立されており、現在このモデルマウスを利用した応用研究を進めている。

[日吉真照、斎藤益満、滝澤和也、大隈和、濱口功]

### 5) 抗 HTLV-1 ヒト免疫グロブリンを用いた革新的感染予防法の開発

新しいHTLV-1感染予防策の一環として、抗HTLV-1抗体陽性の献血由来血漿を用いた高力価抗HTLV-1免疫グロブリン製剤の開発を目指している。抗体検査陽性検体の中から30検体を選択し、*in vitro*感染抑制効果を指標としてスクリーニングした結果、末梢血液中のProviral load 4%以上の検体は強くcell to cellのHTLV-1感染を阻止することを確認した( $p < 0.001$ )。保管血漿を用いて血漿由来グロブリン製剤の製造方法に準じてコーンのエタノール血漿分画によりイムノグロブリンを精製したところ精製率は97%以上、精製効率は35%であった。これらの価は実際の血漿由来グロブリン製剤製造工程における精製率と同等であった。今後ヒト化マウスを用いて*in vivo*における感染抑制の有無を検討する予定である。

[野島清子、水上拓郎、倉光球、松本千恵子（日本赤十字社）、佐竹正博（日本赤十字社）、田所憲治（日本赤十字社）大隈和、濱口功]

#### 6) B型肝炎ウイルスX蛋白質(HBx)による細胞死制御機構の解明に向けた構造生物学的研究

HBxはアミノ酸154残基からなる蛋白質で、Bcl-x<sub>L</sub>(抗アポトーシス蛋白質)と相互作用し、細胞死を誘導することが知られている。そこで、Bcl-x<sub>L</sub>と結合するHBx BH3様モチーフに着目し、CDとNMR解析を実施した。その結果、HBx BH3様モチーフが $\alpha$ ヘリックスを形成できる能力を持つこと、その $\alpha$ ヘリックス領域がL108-L134であることを明らかにした。現在、HBx BH3様モチーフを含むペプチドとBcl-x<sub>L</sub>の複合体解析に取り組んでいる。

[楠英樹、濱口功]

#### 7) B型肝炎ウイルスX蛋白質(HBx)と相互作用する蛋白質の解析

HBV感染はB細胞にも感染するという報告があり、この感染がB-lymphomaの発症率を高めるという報告がある。HBV蛋白質であるHBxと相互作用する宿主タンパク質に着目し、HBxと相互作用するタンパク質をB細胞からの検出をするため、GST-HBxを用いて、Raji細胞のlysateから相互作用する宿主因子をLC-MS/MSで検索したところ、いくつか相互作用すると考えられるタンパク質が同定された。これらの蛋白質のcDNAを作製し、ベクターに組み入れ、培養細胞発現系で確認を試みている。

[益見厚子]

#### 8) Cohnの血漿分画法によるC型肝炎ウイルスの不活化の評価

C型肝炎ウイルス(HCV)に汚染された第IX因子やフィブリノゲン製剤投与によるHCV感染が過去に報告されて来た。これらの製剤のウイルスクリアランスはモデルウイルスを用いて評価されたものである。本研究ではHCV-JFH1株を用いてCohnエタノール分画法によってウイルスの感染性と核酸がどの画分に分配されるかを評価した。実際の血液製剤の製造工程をスケールダウンした実験室レベルのCohnエタノール分画する系を確立しHCVをスパイクした血漿中のHCV感染性がどの画分に移行するかを検討した。クリオ/脱クリオ分画と8%エタノール分画におけるHCVの感染性の分配を評価した。その結果、99.9%のHCV感染性が脱クリオ画分に分画され、8%エタノール分画では0.7%がFra.1(フィブリノゲン沈殿画分)、99%がS1上清画分に分画され8%エタノール処理では感染性が保持されることが明らかとなった。

[野島清子、下池貴志（ウイルス第二部）、岡田義昭]

#### 9) 組換えVSVを用いたHIV-1感染症/エイズに対する新規治療法の開発

ヒト免疫不全ウイルス1型(HIV-1)感染症/エイズに対する現在の標準的治療法である多剤併用療法は非常に効果的ではあるが、副作用や薬剤耐性ウイルスの出現による治療効果の減弱、ウイルスの完全排除が極めて困難等の重大な問題点がある。そのため、それらを改善する新規薬剤の開発が望まれている。そこで新規薬剤候補として、従来の薬剤にない作用機序を有する組換え水疱性口内炎ウイルス(VSV)を作製し、その有効性を*in vitro*やHIV-1が感染したヒト化マウスを用いて評価している。

[大隈和、西澤雅子(エイズ研究センター)、田中勇悦(琉球大学)]

#### 10) 日本における血液製剤の副作用サーベイランス体制の確立に関する研究

2007年に輸血製剤による副作用全数把握に向けてのサーベイランスシステムを構築し、副作用収集の体制づくりの検討を行っている。7大学病院から開始したパイロットスタディは、今年度までに全国の大学病院の半数以上(47大学病院)と300床以下の5病院がシステムに参加し、全国網羅のシステムの構築に向けての基盤作りが順調に進行している。また、厚労科学研究「ヘモビザンランス(血液安全監視)体制のあり方に関する研究」班において、血液製剤のトレーサビリティ導入の検討や診療科別の輸血副作用発生調査、インシデントの捕捉、臨床現場の教育プログラム作成など我が国のヘモビザンランス体制の拡充をめざす研究活動を進めている。

[小高千加子、岡田義昭、大隈 和、濱口功]

[田中明子、楠英樹、大隈和、佐藤結子、平松竜司、益見厚子、水上拓郎、高井麻海子、古畑啓子]

## II. 品質管理に関する業務、研究

### 1. 血液製剤

#### 1) 抗補体性否定試験の試験法標準化と試験法バリデーションについての研究

静注用グロブリンにおける本試験は、アナフィラキシー等の副反応の原因となるグロブリン凝集体に起因する非特異的な補体活性化能が一定以下であることをバイオアッセイで確認する試験である。血液製剤メーカーの品質管理部との共同研究により抗補体価を定めた参照品を作製し仮運用を開始した。参照品を元に相対的に抗補体価を算出することにより、施設間の抗補体価の乖離が小さくなることが示された。

[野島清子、岡田義昭、大隈和、濱口功]

#### 2) pH4 処理酸性人免疫グロブリン（皮下注射）の承認前検査

当該血液製剤は、血漿を原料に製造されるグロブリン製剤としては初めての20%高濃度の皮下注射用製剤である。小分品3ロットにおいて、免疫グロブリンG重合物否定試験、同定試験、免疫グロブリンG含量試験（セルロースアセテート膜電気泳動試験、アガロース電気泳動試験）、たん白質含量試験、発熱試験、異常毒性否定試験を実施した。

[野島清子、岡田義昭、大隈和、斉賀菊江、荒木久美子、佐藤結子、斎藤益満、平松竜司、益見厚子、前山順一、水上拓郎、高井麻海子、古畑啓子、濱口功]

#### 3) 乾燥濃縮人血液凝固第X因子加活性化第VII因子の承認前検査

当該血液製剤につき、第X因子力価試験、第VII因子力価試験、抗第X因子マウスIgG否定試験、抗第VII因子マウスIgG否定試験、含湿度試験、pH試験、浸透圧試験、発熱試験、異常毒性否定試験を実施した。

[倉光球、野島清子、大隈和、斉賀菊江、荒木久美子、佐藤結子、田中明子、斎藤益満、平松竜司、益見厚子、前山順一、水上拓郎、高井麻海子、古畑啓子、濱口功]

### 2. ワクチン

#### 1) 沈降精製百日咳ジフテリア破傷風不活化ポリオ混合ワクチンの承認前検査

当該ワクチンにつき、たん白質含量試験、アルミニウム含量試験、ホルムアルデヒド含量試験、異常毒性否定試験を実施した。

#### 2) 乳濁細胞培養 A 型インフルエンザワクチン H5N1 株の承認前検査

当該ワクチンにつき、 $\alpha$ -トコフェロール及びスクワレン確認、含量試験、発熱試験、異常毒性否定試験を行った。

[田中明子、大隈和、前山順一、益見厚子、平松竜司、水上拓郎、高井麻海子、古畑啓子]

#### 3) 細胞培養インフルエンザワクチン H5N1 の承認前検査

当該ワクチンにつき、たん白質含量試験、アルミニウム含量試験、ホルムアルデヒド含量試験、発熱試験、異常毒性否定試験を実施した。

[田中明子、楠英樹、斎藤益満、大隈和、前山順一、益見厚子、平松竜司、水上拓郎、高井麻海子、古畑啓子]

#### 4) 沈降ヘモフィルス b 型ワクチンの承認前検査

当該ワクチンにつき、アルミニウム含量試験（製造所実施のスチルバジ法及びICP法）、異常毒性否定試験を実施した。

[田中明子、大隈和、前山順一、益見厚子、平松竜司、水上拓郎、高井麻海子、古畑啓子]

#### 5) 細胞培養全粒子インフルエンザワクチン H5N1 の承認前検査

当該ワクチンのたん白質含量試験、発熱試験、異常毒性否定試験を実施した。

[楠英樹、大隈和、前山順一、益見厚子、平松竜司、水上拓郎、高井麻海子、古畑啓子]

#### 6) 髄膜炎菌（血清型 A、C、Y 及び W-135）多糖体ジフテリアトキソイド結合体ワクチンの承認前検査

当該ワクチンのたん白質含量試験、異常毒性否定試験を実施した。

[楠英樹、大隈和、益見厚子、平松竜司、水上拓郎、高井麻海子、古畑啓子]

### 3. 体外診断薬用医薬品

#### 1) C 型肝炎ウイルス抗体キットの承認前試験

当該体外診断用医薬品2キットにつき、正確性試験、同時再現性試験、ロット間差試験、および既承認品との比較試験を実施した。 [百瀬暖佳、大隈和、濱口功]

## 2) ABO 式血液型キットの承認前試験

抗A血液型判定用抗体、抗B血液型判定用抗体につき、特異性試験、凝集価試験、および凝集力試験の3試験を実施した。 [百瀬暖佳、濱口功]

## 3) Rh 式血液型キットの承認前試験

抗D血液型判定用抗体につき、特異性試験、凝集価試験、および凝集力試験の3試験を実施した。 [百瀬暖佳、濱口功]

## 4) 抗ヒトグロブリン抗体(多特異性抗体)の承認前試験

当該体外診断用医薬品につき、特異性試験、および凝集価試験の2試験を実施した。 [百瀬暖佳、濱口功]

## 5) ABO 式血液型キット、Rh 式血液型キット(ゲルカラム遠心凝集法血液型判定用抗体)の承認前試験

抗A血液型判定用抗体、抗B血液型判定用抗体、抗D血液型判定用抗体につき、特異性試験、および力価試験の2試験を実施した。 [百瀬暖佳、濱口功]

## III. ワクチン開発および評価法開発に関する研究

### 1) 結核ブースターワクチン用アジュバントの作用機構の検討

CpG-DNAであるG9.1のアジュバントとしての作用を明らかにするために、基礎的な成績を集積した。マウス骨髄細胞をG9.1と24時間共培養したところ、IFN $\alpha$ 、IFN $\gamma$ の産生が強く誘導され、IL-12、IL-5も検出された。また、IgA産生に重要な役割を果たすBAFFの産生が有意に増強した。さらにTh1細胞の特異的な転写因子であるT-betが強く発現した。また、ヒトのPBMCおよび形質様樹状細胞(pDC)でも同様な結果が得られた。結核菌抗原を投与したマウスにおいてもG9.1との同時投与で結核菌抗原に特異的なIgG2c産生が増強した。以上の結果およびこれまで成績からG9.1は、pDCのTLR9を介してTh1免疫を増強するアジュバントであることが示された。

[前山順一、山本三郎(バイオセーフティ管理室、日本BCG研究所)、伊保澄子(福井大学)]

### 2) 結核菌組換えタンパク質の結核菌感染防御効果によるブースターワクチンとしての評価

ワクチン候補評価のために二回の噴霧感染実験を行った。24年度行った感染実験で有効性が確認されたワクチン候補について、同条件での再現性を確認したところ、ブースターワクチン投与群で、顕著な効果が認められた。

特に脾臓では、1/100に結核菌数が減少し、病理組織学的にも肉芽腫の減少が観察され症状の改善が認められた。肺では、充分効果の出た個体もあり、一定の効果が認められたが、より有効性を高めるため、ワクチンの最適化および気道内免疫等免疫条件を検討する必要があることが明らかになり、さらに投与方法・投与量等の最適条件について検討を続けている。

[前山順一、山崎利雄(バイオセーフティ管理室)、網康至(動物管理室)、松本壮吉(大阪市大)、伊保澄子(福井大学)、山本三郎(バイオセーフティ管理室、日本BCG研究所)]

### 3) 網羅的遺伝子発現解析による革新的アジュバント安全評価法の開発

近年、新規ワクチン開発にはアジュバントの存在が欠かせないものがありつつある。しかしながら、アジュバントはその起源や作用機序などが多岐にわたり、他の創薬に比べその有効性そして安全性の指標(マーカー)が未開拓という点が挙げられる。そこで我々はアジュバント含有ワクチンの有効性と安全性の新規評価法の開発を目的に、まず生体内におけるアジュバントの免疫細胞への影響が有効性と安全性のマーカーとして有用であると考へ、それについて検討を行った。平成24年度には2種類のアジュバント、水酸化アルミニウムゲル(Alum)、FCA(Freund's Complete Adjuvant)をそれぞれラットの腹腔と筋肉に接種し、接種6時間後と24時間後のラットから肺、肝臓、腎臓、脾臓、筋肉を摘出し、遺伝子発現解析を行った。その結果、アジュバントを接種したラットの匹数が少なかったため、遺伝子発現解析で得た結果の信憑性が低いことが明らかとなった。そのため今年度は昨年と同様な実験を行ったサンプルより遺伝子発現解析を行い、アジュバントの有効性と安全性を示すマーカーを探索している。

[斎藤益満、水上拓郎、百瀬暖佳、倉光球、滝澤和也、濱口功]

## IV. 血液に関する研究

### 1) ATLモデルマウスにおけるATL癌幹細胞特性の解明とニッチを標的とした治療薬の開発

我々はATL様病態のモデルマウス(HTLV-1 Tax-Tg)の脾腫中に存在する癌幹細胞に注目し、ATL癌幹細胞とATL発症との関係解明のために研究を進めている。ATL進行時の各種ストローマ細胞や微小環境の変化をFACS及び組織学的に検討した所、脾臓では血管内皮が、骨髄では

Fibroblastic reticular cells や血管内皮細胞の顕著な増加が認められた。また骨髄では破骨細胞の異常な増加と活性化が認められ、高カルシウム血症の原因となっている可能性が示唆された。これらのニッチ細胞を標的とした治療薬の開発を試みた結果、破骨細胞の阻害剤の投与によって抗がん剤の効果が促進されたことを明らかにした。現在、その他のニッチ細胞を標的とした治療薬の開発を行っている。

[水上拓郎、滝澤和也、長谷川秀樹(感染病理部)、William Hall (University College Dublin)、濱口功]

## 2) ATL モデルマウスである HBZ トランスジェニックマウスにおける ATL 癌幹細胞特性の同定

我々は ATL 様病態のモデルマウス (HTLV-1 Tax-Tg) の脾腫中に癌幹細胞が存在する事を明らかにしてきた。近年、京都大学の松岡らによって作出された HTLV-1 HBZ 遺伝子組換えマウス (HBZ-Tg) においても、ATL 様の病態が発生する事が報告された。そこで、HBZ-Tg 由来の腫瘍において癌幹細胞特性を有する細胞が存在するかを検討した。その結果、薬剤排出能の高い SP 細胞が HBZ-Tg 由来の腫瘍中に低頻度で存在し、更に SP 細胞中には c-kit 陽性細胞が濃縮して存在している事が明らかとなった。現在、これらの細胞の特性解析を、*in vivo* 及び *in vitro* で行っている。

[栗林和華子、水上拓郎、滝澤和也、松岡雅雄 (京都大学)、濱口功]

## 3) 先天性赤芽球癆の原因遺伝子の機能解析

先天性赤芽球癆 (DBA) は、造血幹細胞からの赤芽球分化・増殖異常により重症の貧血をおこす。リボソームタンパク質遺伝子のヘテロ接合変異が原因として知られる。稀少疾患であるため研究用に使用できる臨床検体の入手が困難であることが治療法開発への妨げとなっている。遺伝子異常が明らかとなった DBA 患者末梢血から多能性幹細胞の樹立を進め、熊本大学発生医学研究所、担当医師・患者等協力して、これまでに 3 症例の DBA 患者から多能性幹細胞の樹立に成功した。今後、リボソーム変異から赤芽球分化抑制が誘導されるメカニズムについて解析を進め新しい治療法開発を目指す。

[倉光球、江良拓実 (熊本大学)、濱口功]

## 4) 発生初期の造血システムの解析

血球系細胞の供給元である造血幹細胞は胎生期初期に形成されるが、そのメカニズムは未だ不明な点が多い。特に一次造血の開始 (マウスでは妊娠 7 日目) 以前につ

いてはほとんど解析がなされていない。そこで、造血幹細胞の運命決定機構の解明に向け、妊娠 5、6 日目のマウス胎児における造血幹細胞発生に関わる遺伝子の発現パターンを、免疫組織化学により解析した。その結果、多くの関連遺伝子が発生初期では胚体外組織に発現していることを見出した。このことから、発生初期の造血幹細胞形成において胚体外組織が関与していることが示唆された。

[平松竜司、水上拓郎、濱口功]

## 5) IRF-2 のマウス造血幹細胞に及ぼす影響について

これまで我々はインターフェロン制御転写因子 IRF-2 がマウス骨髄細胞の Stem cell 分画に高発現していることと、IRF-2 欠損マウスの骨髄細胞における KSL (c-kit+, Sca-1+, Lin-) の X 線照射マウスへの移植後の生着率が低いことを報告した。IRF-2 欠損マウスの造血幹細胞をさらに解析した。IRF-2 欠損マウス由来の骨髄細胞全体を X 線照射マウスに移植するとき、移植細胞数を多くするとある程度の細胞生着を認めた。またこのとき recipient の骨髄細胞においてドナーである IRF-2 欠損マウス由来の造血幹細胞 KSL および Lin-CD48-CD150+細胞の全体の骨髄細胞に対する比率が高くなっていった。

[益見厚子]

## 6) 造血幹細胞特異的チロシンキナーゼ Tie の機能解析

造血幹細胞の機能発現には、造血 niche から供給される Ang1 によって、造血幹細胞の Tie2 が活性化されることが重要であると考えられている。これまでに我々は、オートクラインによる Ang1/Tie2 の活性化経路が存在する可能性を示してきた。接着因子の架橋によっても Tie2 活性化が惹起される可能性を示唆するデータが得られており、Tie2 シグナルに対する細胞極性の重要性が考えられた。

[百瀬暖佳、濱口功]

## 7) マウス胸腺の微小環境に関する研究

BRCA1 (breast cancer susceptibility gene I) は家族性の乳癌原因遺伝子として同定されたがん抑制遺伝子であり、BRCA1 に変異があると高い確率で乳がんや卵巣がんを発症する。BRCA1 変異に伴う乳腺上皮細胞の分化と乳癌の起源の解明に向けて世界中で研究が進められている。BRCA1 は乳腺、卵巣以外にも精巣、胸腺で強く発現するが、胸腺における BRCA1 については全く不明である。今回、マウス胸腺で BRCA1 が髄質上皮細胞に発現することを見いだした。ケラチン 14 発現細胞に特異的に BRCA1 変異を持つマウスでは髄質上皮細胞の過剰な分化と皮質上皮細胞の増殖が認められ、BRCA1 が胸腺上皮細胞の分

化に關与することが明らかとなった。 [小高千加子] 活性化凝固因子否定試験：6 ロット

## V. 国家検定、収去試験、抜き取り検査、依頼試験、承認前検査等の実績

### 1. 国家検定

血液製剤力価試験：90 ロット  
 (血液凝固第Ⅷ因子：47、アンチトロンビンⅢ：27、ハプトグロビン：7、乾燥抗D(Rho)人免疫グロブリン：2、抗HBs人免疫グロブリン：2、乾燥抗HBs人免疫グロブリン：3、ポリエチレングリコール抗HBs人免疫グロブリン：2) 免疫グロブリンG 重合体否定試験：110 ロット  
 抗補体性否定試験：86 ロット  
 含湿度試験：163 ロット  
 ホルムアルデヒド含量試験：48 ロット  
 たん白質含量試験 (ローリー法)：108 ロット  
 たん白窒素含量試験：14 ロット  
 凝固性たん白質含量及び純度試験：47 ロット  
 アルミニウム含量試験 (スチルバゾ)：5 ロット  
 アルミニウム含量試験 (ICP)：26 ロット  
 フェノール含量試験：25 ロット  
 ヘモグロビン含量試験：7 ロット  
 MPL 含量試験：2 ロット  
 クエン酸ナトリウム含量試験：4 ロット  
 異常毒性否定試験：243 ロット  
 発熱試験：76 ロット

### 2. 収去試験

抗 A 血液型判定用抗体：3 ロット  
 抗 B 血液型判定用抗体：3 ロット  
 抗 D 血液型判定用抗体：6 ロット  
 抗ヒトグロブリン抗体(多特異性抗体)：2 ロット

### 3. 抜き取り検査

たん白窒素含量試験：8 ロット  
 含湿度試験：2 ロット  
 pH 試験：2 ロット  
 ヒスタミン含量試験：2 ロット  
 異常毒性否定試験：4 ロット  
 発熱試験：4 ロット  
 セルロースアセテート膜電気泳動試験：2 ロット  
 熱安定性試験：2 ロット  
 同定試験：2 ロット  
 異種たんぱく質否定試験：2 ロット  
 血液凝固第 IX 因子力価試験：6 ロット

### 4. 依頼検査

たん白質含量試験 (ローリー法)：46 ロット  
 ホルムアルデヒド含量試験：2 ロット  
 チメロサル含量試験：4 ロット

### 5. 承認前検査

免疫グロブリンG 重合体否定試験：3 サンプル  
 同定試験：3 サンプル  
 免疫グロブリンG 含量試験：3 サンプル  
 抗Ⅶマウス IgG 否定試験：1 サンプル  
 抗Ⅹマウス IgG 否定試験：1 サンプル  
 活性化血液凝固第Ⅶ因子力価試験：1 サンプル  
 血液凝固第Ⅹ因子力価試験：1 サンプル  
 アンチトロンビンⅢ力価試験：1 サンプル  
 含湿度試験：1 サンプル  
 たん白質含量試験：4 サンプル  
 たん白窒素含量試験：1 サンプル  
 ホルムアルデヒド含量試験：2 サンプル  
 アルミニウム含量試験 (スチルバゾ)：3 サンプル  
 アルミニウム含量試験 (ICP)：1 サンプル  
 pH 試験：1 サンプル  
 浸透圧試験：1 サンプル  
 α-トコフェロール及びスクワレン含量試験：1 サンプル  
 異常毒性否定試験：23 サンプル  
 発熱試験：13 サンプル

### 6. 行政検査

異常毒性否定試験：2 ロット

### 7. 総合判定

#### (国家検定項目)

乾燥人フィブリノゲン：4 ロット  
 乾燥濃縮人血液凝固第Ⅷ因子：47 ロット  
 乾燥濃縮人アンチトロンビンⅢ：27 ロット  
 人ハプトグロビン：7 ロット  
 筋注用人免疫グロブリン：3 ロット  
 乾燥イオン交換樹脂処理人免疫グロブリン：6 ロット  
 乾燥スルホ化人免疫グロブリン：86 ロット  
 pH4 処理酸性人免疫グロブリン：20 ロット  
 乾燥 pH4 処理人免疫グロブリン：10 ロット  
 PEG 処理人免疫グロブリン：22 ロット  
 乾燥 PEG 処理人免疫グロブリン：44 ロット  
 pH4 処理酸性人免疫グロブリン (皮下注射)：3 ロット



乾燥抗破傷風人免疫グロブリン：1ロット  
抗破傷風人免疫グロブリン：1ロット  
PEG 処理抗 HBs 人免疫グロブリン：2ロット  
PEG 処理抗破傷風人免疫グロブリン：3ロット  
抗 HBs 人免疫グロブリン：2ロット  
乾燥抗 HBs 人免疫グロブリン：3ロット  
乾燥抗 D 人免疫グロブリン：2ロット  
人血清アルブミン：227ロット  
加熱人血漿たん白：12ロット

#### (抜き取り検査項目)

血液凝固第 IX 因子製剤（複合体を含む）：6ロット  
ヒスタミン加ヒト免疫グロブリン：2ロット

#### (収去試験項目)

抗 A 血液型判定用抗体：3ロット  
抗 B 血液型判定用抗体：3ロット  
抗 D 血液型判定用抗体：6ロット  
抗ヒトグロブリン抗体(多特異性抗体)：2ロット

#### 8. 体外診断用医薬品の承認前検査

- 1) C型肝炎ウイルス抗体キット：2キット(1キットにつき3ロット)
- 2) 抗A血液型判定用抗体：1件(3ロット)
- 3) 抗B血液型判定用抗体：1件(3ロット)
- 4) 抗D血液型判定用抗体：1件(3ロット)
- 5) 抗ヒトグロブリン抗体(多特異性抗体)：2件(1件につき3ロット)
- 6) ゲルカラム遠心凝集法血液型判定用抗体：1件(3ロット)

#### 国際協力関係業務

1) 2013年11月26日：JICA研修「次の10年に向けてのAIDSの予防及び対策」において、「HIVの感染機構 Mechanism of HIV infection」の講義を行った。

[大隈和]

2) 2013年11月26日：JICA研修「次の10年に向けてのAIDSの予防及び対策」コースで、「ヘモビジランス」の講義を担当した。

[小高千加子]

3) 2014年1月21日：JICA研修「ワクチン品質・安全性確保のための行政機能強化」コースで、物理化学試験の講義を担当した。

[楠英樹]

4) 2014年1月27日：JICA研修「安全な血液医療」(中米地域)コースで、「細菌感染症」の講義を行った。

[濱口功]

5) 2014年1月27日：JICA研修「安全な血液医療」(中米地域)コースで、「ヘモビジランス」の講義を行った。

[小高千加子]

#### 研修業務

1) 2013年7月16日：知の市場において、「HTLV-1の課題と対策について」の講義を行った。

[濱口功]

2) 2013年10月8日：知の市場において、「血液製剤の品質管理」の講義を行った。

[濱口功]

3) 2013年10月24日：医師卒後臨床研修プログラムにおいて、「血液製剤の品質管理」の講義を行った。

[大隈和]

#### 発表業績一覧

##### I. 誌上発表

##### 1. 欧文発表

1) Odaka C, Hauri-Hohl M, Takizawa K, Nishikawa Y, Yano M, Matsumoto M, Boyd R, Holländer GA: TGF- $\beta$  type II receptor expression in thymic epithelial cells inhibits the development of Hassall's corpuscles in mice. *Int Immunol.* 25, 633-42, 2013.

2) Chutiwitoonchai N, Hiyoshi M, Hiyoshi-Yoshidomi Y, Hashimoto M, Tokunaga K, Suzu S: Characteristics of IFITM, the newly identified IFN-inducible anti-HIV-1 family proteins. *Microbes Infect.* 15: 280-90, 2013.

3) Odaka C, Loranger A, Takizawa K, Ouellet M, Tremblay MJ, Murata S, Inoko A, Inagaki M, Marceau N: Keratin 8 is required for the maintenance of architectural structure in thymus epithelium. *PLoS One.* 8: e75101, 2013.

4) Baylis A, Blümel J, Mizusawa S, Matsubayashi K, Sakata H, Okada Y, C. Nübling M, Hanschmann K, and the HEV Collaborative Study Group: World Health Organization International Standard to harmonize assays for detection of hepatitis E virus RNA. *Emerg Infect Dis.* 19: 729-35.2, 2013.

5) Takizawa K, Nakashima T, Mizukami T, Kuramitsu M, Endoh D, Kawauchi S, Sasaki K, Momose H, Kiba Y, Mizutani T, Furuta RA, Yamaguchi K, Hamaguchi I : Degenerate polymerase chain reaction strategy with DNA microarray for detection of multiple and various subtypes of virus during blood screening. *Transfusion* 53: 2545- 55, 2013.

- 6) Taniguchi K, Takii T, Yamamoto S, Maeyama J, Iho S, Maruyama M, Iizuka N, Ozeki Y, Matsumoto S, Hasegawa T, Miyatake Y, Itoh S, Onozaki K: Reactivation of immune responses against Mycobacterium tuberculosis by boosting with the CpG oligomer in aged mice primarily vaccinated with Mycobacterium bovis BCG. *Immun Ageing*. 10: 25, 2013.
- 7) Hiyoshi M, Hashimoto M, Yukihara M, Bhuyan F, Suzu S: M-CSF receptor mutations in hereditary diffuse leukoencephalopathy with spheroids impair not only kinase activity but also surface expression. *Biochem Biophys Res Commun*. 440: 589-93, 2013.
- 8) Hiramatsu R, Matsuoka T, Kimura-Yoshida C, Han S-W, Mochida K, Adachi T, Takayama S, Matsuo I: External Mechanical Cues Trigger the Establishment of the Anterior-Posterior Axis in Early Mouse Embryos. *Dev. Cell*, 272: 132-144, 2013.
- 9) Harikae K, Miura K, Shinomura M, Matoba S, Hiramatsu R, Tsunekawa N, Kanai-Azuma M, Kurohmaru M, Morohashi K, Kanai Y: Heterogeneity in sexual bipotentiality and plasticity of granulosa cells in developing mouse ovaries. *J Cell Sci*. 126: 2834-2844, 2013.
- 10) Masumi A, Hematopoietic stem cell and response to interferon. In: Stem Cell Biology in Normal Life and Diseases, Prof. Alimoghaddam (Ed.), In Teck DOI: 10.5772/54689, 2013.
- 11) Tanio M, Kusunoki H, Kohno T: <sup>1</sup>H, <sup>13</sup>C and <sup>15</sup>N backbone resonance assignments of the monomeric human M-ficolin fibrinogen-like domain secreted by *Brevibacillus choshinensis*, *Biomol. NMR Assign.*, 8, 207-211, 2014.
- 12) Maeyama J, Takatsuka H, Suzuki F, Kubota A, Horiguchi S, Komiya T, Shimada I, Murata E, Osawa Y, Kitagawa H, Matsuki T, Isaka M, Yamamoto S, Iho S: A palindromic CpG-containing phosphodiester oligodeoxynucleotide as a mucosal adjuvant stimulates plasmacytoid dendritic cell-mediated T(H)1 immunity. *PLoS One*, 9: e88846, 2014.
- 13) Kasama Y, Mizukami T, Kusunoki H, Peveling-Oberhag J, Nishito Y, Ozawa M, Kohara M, Mizuochi T, and Tsukiyama-Kohara K: B-cell-intrinsic Hepatitis C virus expression leads to B-cell-lymphomagenesis and induction of NF-κB signalling. *PLoS One*, 9:e91373, 2014.
- 14) Kusunoki H, Tanaka T, Kohno T, Wakamatsu K, Hamaguchi I: Structural characterization of the BH3-like

motif of hepatitis B virus X protein, *Biochem Biophys Res Commun*, In Press.

- 15) Mizukami T, Momose H, Kuramitsu M, Takizawa K, Araki K, Furuhata K, Ishii K, Hamaguchi I, Yamaguchi K: System vaccinology for the evaluation of influenza vaccine safety by multiplex gene detection of novel biomarkers in a preclinical study and batch release test *PLoS One*, In Press.
- 16) Epstein J, Ganz PR, Seitz R, Jutzi M, Schaerer C, Michaud G, Agbanyo F, Smith G, Prosser I, Heiden M, Saint-Marie I, Oualikene-Gonin W, Hamaguchi I, Yasuda N: A shared regulatory perspective on deferral from blood donation of men who have sex with men (MSM). *Vox Sang*, In Press

## 2. 和文発表

- 1) 倉光球、瀧口功：リボソーム異常症と関連疾患、血液フロンティア、第24巻24号、Vol. 24、81-89、2014
- 2) 相良康子、後藤信代、井上由紀子、守田麻衣子、倉光球、大隈和、瀧口功、入田和男、清川博之：抗HTLV-1抗体検査（ウエスタンブロット法）判定保留例の解析、日本輸血細胞治療学会誌、第60巻1号、18-24、2014
- 3) 内藤幹彦、益見厚子：臨床応用をめざした薬学の基礎研究、薬学雑誌、第133巻12号、1361-1362、2013
- 4) 瀧口功：HTLV-1の現状と感染対策の方針、感染・炎症・免疫、印刷中

## II. 学会発表

### 1. 国際学会

- 1) Nojima K, Mizukami T, Kuramitsu M, Matsumoto C, Sobata R, Okuma K, Satake M, Tadokoro K, Yamaguchi K, Hamaguchi I: Development of effective prevention method of HTLV-1 infection by using HTLV-1 sero-positive serum in vitro. AABB Annual Meeting, Denver, CO, Oct, 2013.
- 2) Okada Y, Momose H: Update on regulatory issues in Japan. SoGAT 24th Blood Virology and 4th Clinical Diagnostics Meeting, Ljubljana, Slovenija, May 2013.
- 3) Takii T, Taniguchi K, Yamamoto S, Maeyama J, Iho S, Maruyama M, Iizuka N, Ozeki Y, Matsumoto S, Itoh S, Onozaki K: Boosting effect of Oligo B in super aged mice primarily vaccinated with Mycobacterium bovis BCG on the protection activity against Mycobacterium tuberculosis infection. Front Range Mycobacteria Conference, Fort Collins, CO, Jun 2013.
- 4) Mizukami T, Takizawa K, Kuramitsu M, Kuribayashi W, Hiramatsu R, Momose H, Yamazaki J, Hall W-W, Hasegawa

H, Yamaguchi K, Hamaguchi I: The Role of Osteoclasts in the Developing Leukemic Stem Cell Niche in a Mouse Model of Adult T-Cell Leukemia. 18th Congress of European Hematology Association, Stockholm, Sweden, Jun 2013.

5) Mizukami T, Takizawa K, Yamazaki J, Kuribayashi W, Kuramitsu M, Hiramatsu R, Hall W-W, Hasegawa H, Yamaguchi K, Hamaguchi I: The Osteoclast Targeting Therapy In Bone Metastasis For a Mouse Model Of Adult T Cell Leukemia. 55th American society of Hematology annual Meeting, New Orleans, LA Dec 2013.

## 2. 国内学会

1) 瀧口功: HTLV-1 感染症診断法の課題と対策. 第 61 回日本輸血・細胞治療学会総会、横浜、2013 年 5 月

2) 岡田義昭、水澤左衛子、瀧口功: 血漿分画製剤からの簡便なウイルスの濃縮法. 横浜、2013 年 5 月

3) 長野冬子、後藤信代、井上由紀子、相良康子、倉光球、瀧口功、入田和男、清川博之: 抗 HTLV-1 抗体検査 (ウエスタンブロット法) 判定保留例の解析. 横浜、2013 年 5 月

4) 倉光球: 造血不全、Diamond Blackfan 貧血の分子病態. 第 13 回血液フォーラム、東京、2013 年 5 月

5) 益見厚子、滝澤和也、水上拓郎、倉光球、百瀬暖佳、山口一成、瀧口功: インターフェロン制御転写因子 (IRF-2) の造血幹細胞に及ぼす影響について. 第 14 回 Pharmaco-Hematology、東京、2013 年 6 月

6) 大隈和、長谷川玲子、日吉真照、堀澤健一、土居信英、森下和広、瀧口功: ATL 細胞マーカー TSLC1 に特異的かつ高親和性に結合する CRTAM 変異体の創薬への応用. 第 6 回 HTLV-1 研究会/シンポジウム、東京、2013 年 8 月

7) 野島清子、水上拓郎、倉光球、大隈和、松本千恵子、齋斐田理英子、佐竹正博、田所憲治、山口一成、瀧口功: 抗 HTLV-1 ヒト免疫グロブリンによる in vitro の感染抑制効果とその有用性の検討. 第 6 回 HTLV-1 研究会/シンポジウム、東京、2013 年 8 月

8) 栗林和華子、水上拓郎、滝澤和也、倉光球、百瀬暖佳、菅田謙治、浅田善久、松岡雅雄、瀧口功: 新たな ATL マウスモデルである HBZ トランスジェニックマウスにおける ATL がん幹細胞同定の試み. 第 6 回 HTLV-1 研究会/シンポジウム、東京、2013 年 8 月

9) 水上拓郎: トランスジェニックマウスを用いた「感染症とがん」のクロストーク. 第 156 回日本獣医学会学術集会、岐阜、2013 年 9 月

10) 平松竜司、吉田千春、松尾勲: 哺乳類胚発生メカニズム解明への力学的アプローチ. 第 156 回日本獣医学会

学術集会、岐阜、2013 年 9 月

11) 水上拓郎、滝澤和也、栗林和華子、平松竜司、倉光球、山崎淳平、William Hall、長谷川秀樹、山口一成、瀧口功: 成人 T 細胞白血病マウスモデルを用いた癌幹細胞ニッチ形成における破骨細胞の機能解析と破骨細胞を標的とした治療法の開発. 第 156 回日本獣医学会学術集会、岐阜、2013 年 9 月

12) 小高千加子: 輸血製剤副作用情報収集システム、平成 25 年度全国大学病院輸血部技師会議、札幌、2013 年 10 月

13) Mizukami T、Takizawa K、Kuribayashi W、Hiramatsu R、Kuramitsu M、Momose H、Yamazaki J、Hall WW、Hasegawa H、Yamaguchi K、Hamaguchi I: The role of osteoclast in the leukemic stem cell niche using a mouse model of adult T cell leukemia. 第 75 回日本血液学会学術集会、札幌、2013 年 10 月

14) 栗林和華子、水上拓郎、松岡雅雄、瀧口功: Identification of cancer stem cell candidates in ATL mouse model of HBZ transgenic mice. 第 73 回日本癌学会学術総会、横浜、2013 年 10 月

15) 栗林和華子、水上拓郎、滝澤和也、倉光球、浅田善久、松岡雅雄、瀧口功: Identification of cancer stem cell candidates in ATL mouse model of HBZ transgenic mice. 第 75 回日本血液学会学術集会、札幌、2013 年 10 月

16) Hiramatsu R、Matsuoka T、Kimura-Yoshida C、Han S-W、Mochida K、Adachi T、Takayama S、Matsuo I: External mechanical cues establish the anterior-posterior axis polarity in early mouse development. 第 36 回日本分子生物学会年会、神戸、2013 年 12 月

17) Odaka C: Roles of keratins in the maintenance of architectural structure in thymus epithelium. 第 42 回日本免疫学会総会、千葉、2013 年 12 月

18) 前山順一、山崎利雄、山本十糸子、林大介、松本壮吉、網康至、伊保澄子、山本三郎: 結核ブースターワクチンとしての結核菌組換えタンパク質 MDP1 および TLR9 リガンド G9.1 アジュバントの結核菌噴霧感染による評価. 第 17 回日本ワクチン学会学術集会、津、2013 年 12 月

19) 内藤誠之郎、住田知也、植村大蔵、兒玉賢洋、杉村浩、前山順一: 中空型マイクロニードルを利用したワクチン皮内投与デバイスの開発. 第 17 回日本ワクチン学会学術集会、津、2013 年 12 月

20) 水上拓郎、倉光球、百瀬暖佳、滝澤和也、齋藤益満、石井健、瀧口功: 網羅的遺伝子発現法を用いた経鼻インフ

ルエンザワクチンの安全性試験法の開発. 第 7 回次世代  
アジュバント研究会、大阪、2014 年 1 月

21) 益見厚子、滝澤和也、水上拓郎、倉光球、百瀬暖佳、  
山口一成、濱口功：インターフェロン制御転写因子  
(IRF-2)の血液細胞分化における影響について、第 133  
回日本薬学会、熊本、2014 年 3 月

22) 前山順一、山崎利雄、山本十糸子、林大介、松本壮  
吉、網康至、須崎百合子、伊保澄子、山本三郎：結核菌  
組換えタンパク質および TLR9 リガンドを用いた結核ブ  
ースターワクチンの結核菌噴霧感染による評価、第 87  
回日本細菌学会総会、東京、2014 年 3 月

23) 井坂雅徳、立野一郎、前山順一、長谷川忠男：二成  
分制御因子による A 群連鎖球菌のバイオフィーム形成機  
構の解析、第 87 回日本細菌学会総会、東京、2014 年 3  
月

24) 内藤誠之郎、住田知也、植村大蔵、兒玉賢洋、杉村  
浩、前山順一：ワクチン皮内投与のための中空型マイク  
ロニードル器具の開発、第 87 回日本細菌学会総会、東京、  
2014 年 3 月

25) 瀧井猛将、宮竹佑治、小川翔大、谷口恵一、伊藤佐  
生智、大原直也、前山順一、林大介、山本三郎：BCG  
Tokyo-172 Type I, Type II 間の酸化ストレス感受性と  
マクロファージ内生存能の比較研究、第 87 回日本細菌学  
会総会、東京、2014 年 3 月

### 3. 特許出願

出願番号：特願 2013-196247

出願日：平成 25 年 9 月 20 日

発明の名称：HTLV-1 プロウイルス検出のためのプライマ  
ーセット、及びそれを用いた検出方法

発明者：倉光球、浜口功、大隈和